

1 723 125 (13) A1

(51) Int. Cl.

STATE COMMITTEE FOR INVENTIONS AND DISCOVERIES

(12) ABSTRACT OF INVENTION

- (71) Applicant: INSTITUT KHIMICHESKOJ FIZIKI IM.N.N.SEMENOVA
- (72) Inventor: VASILEVA SVETLANA VASILEVNA, KADORKINA GULNARA KONSTANTINOVNA, KOSTYANOVSKIJ REMIR GRIGOREVICH, MAKHOVA ELENA VALENTINOVNA, PAVLOVA-REZAKOVA ANNA **GRIGOREVNA**

(54) MUTAGEN

(57) Изобретение относится к генетике, а мутагенной мутагенной именно к установлению мутагенной активности а, й бис-М-азиридиноалканов. мутагенной Целью изобретения является увеличение мутагенной активности повышение

безопасности работы с мутагеном, Показано, что а аьбис-М-азиридиноалканы общей форму- лыЈМ(СН2) где п 3-8 и 12, могут быть использованы в качестве химических мутагенов.

S



(19) SU (11) 1 723 125 (13) A1

` (51) M∏K

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

.6) Дата публикации: 30.03.1992 66) Ссылки: Бартошевич Ю.Э., Филиппова Л.М., Костяновский Р.Г., Генетика, 1966, №4, с. 147155. Костяновский Р.Г., Паньшин О.А. Изв. АН СССР, сер. хим., 1965, № 3, с. 567-570. 98) Адрес для переписки: 11 117977 МОСКВА ГСП-1, КОСЫГИНА 4	(72) Изобретатель: ВАСИЛЬЕВА СВЕТЛАНА ВАСИЛЬЕВНА, КАДОРКИНА ГУЛЬНАРА КОНСТАНТИНОВНА, КОСТЯНОВСКИЙ РЭМИР ГРИГОРЬЕВИЧ, МАХОВА ЕЛЕНА ВАЛЕНТИНОВНА, ПАВЛОВА-РЕЗАКОВА АННА ГРИГОРЬЕВНА11 117334 11ÑRÂÀ, ಔሐ፲ጵ፻፴ጵጵጵ ፲፱.44-1311 117321 11ÑRÂÀ, ፻፱10Ñ፲ጵጵጵ ፲፱.44-1311 117321 11ÑRÂÀ, 1፱10Ñ፲ጵጵጵ ፲፱.44-17011 117279 11ÑRÂÀ, 1ÑOJĨĸċciàs 36-4-17011 117279 11ÑRÂÀ, 1ÑOJĨĸċciàs 37À-12411 127644 11ÑRÂÀ, ÊÀĐÁĔŪŇĚĖĖ Á-Ð 21-1-11611 123056 11ÑRÂÀ, ÓË.2-B ÁĐÁÑÒÑÈÀS 43-30
--	---

_



союз советских .СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1723125 A1

(51)5 C.12 N 15/01

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ по изобретениям и открытиям при гкнт ссср

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



(21) 4767001/13 (22) 08.12.89

(46) 30.03.92. Бюл. № 12

(71) Институт химической физики им.

Н.Н.Семенова

(72) С.В.Васильева, Г.К.Кадоркина, Р.Г.Костяновский, Е.В.Махова и А.Г.Павлова-Реза-KOBA

(53) 575.224.4.08 (088.8)

(56) Бартошевич Ю.Э., Филиппова Л.М., Костяновский Р.Г., Генетика, 1966, № 4. с. 147-

Костяновский Р.Г., Паньшин О.А. Изв. АН СССР, сер. хим., 1965, № 3, с. 567-570.

(54) МУТАГЕН

(57) Изобретение относится к генетике, а именно к установлению мутагенной активности α, ω-бис-N-взиридиноалканов. Целью изобретения является увеличение мутагенной активности и повышение безопасности работы с мутагеном. Показано, что α, ω-бис-N-азиридиноалканы общей формулы $N(CH_2)_n N$ где n = 3-8 и 12, могут быть использованы в качестве химических мутагенов. З табл.

2

Изобретение относится к генетике, а именно к экспериментальному доказательству высокой генетической (мутагенной) активности α, ω -бис-N-азиридиноалканов общей формулы $[N(CH_2)_nN]$, где n = 3-8и 12, которые могут найти практическое применение, в частности в микробиологической и с/х селекции, а также в биотехнологии и медицине.

Известна высокая мутагенная аквность азиридина (этиленимина) CH₂ NH

CH2 в отношении индукции мутаций у различных организмов, включая индукцию His ревертантов у штаммов Salmonella typhimurium TA1535 и TA100 рКМ101. При дозе мутагена 0,28 мМ на чашку число индуцированных His⁺ ревертантов составило 190, превысив спонтанный фон в 95 раз. - для штамма ТА1535, и 290 (превышение спонтанного фона в 8 раз) - для штамма ТА100 рКМ101.

Недостатки в практическом использовании азиридина связаны с тем, что это соединение легколетучее (Ткип. 55) пожароопасное, обладает кожнонарывным

Целью изобретения является увеличение мутагенной активности и повышение безопасности работы с ним.

Известно применение а, а-бис-N-азиридиноалканов в качестве компонент реактивных топлив, сшивающих реагентов для полимеров и как препараты, обладающие противоопухолевой активностью.

Предложено использование а, а-бис-N-азиридиноалканов в качестве мутагенов'в отношении бактериальной клетки S. typhimurium TA100 с генотипом his G46 uvrB rfa pKM 101. Этот штамм является производным штамма S. typhimurium TA1535 и несет миссенс мутацию hls G46, ту же, что и в штамме ТА1535. В качестве тест-объекта использован также ТА1535.

OT Изобретение риментальному генетике, а именно к генетической ВЫСОКСИ доказательству активности -бис-(мутагенной) общей формулы -азиридиноалканов N(CH2)nN , где п 3-8 и 12, которые могут практическое применение, частности в микробиологической и также а селекции, биотехнологии и медицине.

мутагенная Известна высокая активность азиридина (этиленимина)

CH24 NH

СН2в отношении индукции мутаций у организмов, включая различных ревертантов His+ индукцию штаммов Salmonella typhimurium TA1535 и ТА100 рКМ101. При дозе мутагена 0,28 мМ на индуцированных число ревертантов составило 190, превысив спонтанный фон в 95 раз,- для штамма ТА1535, и 290 (превышение спонтанного фона в 8 раз) - для штамма ТА100 рКМ101.

практическом Недостатки В использовании азиридина связаны с тем, что (ТКип. соединение легколетучее 3TO пожароопасное, и кожнонарывным действием.

Целью изобретения является активности увеличение мутагенной повышение безопасности работы с ним.

применение Известно ридиноалканов в качестве и-бис-М-азикомпонент реактивных топлив, сшивающих реагентов для полимеров и как препараты, обладающие противоопухолевой активностью.

использование Предложено N-азиридиноалканов в качестве ш-бисмутагенов в отношении бактериальной клетки S. typhimurium TA100 с генотипом his G46 uvrB rfa pKM 101. Этот штамм является производным штамма S. typhimurium TA1535 и несет миссенс мутацию his G46, ту же, что и в штамме ТА 1535. В качестве тест-объекта использован также ТА1535.

сл

ഗ

XI ND OJ

ю сл

мутагенной изучения химических указанных активности соединений использован классический тест Эймса, основанный на учете числа His ревертантов на чашке Петри в зависимости от дозы внесенного соединения.

-бис-Ы-азиридиноалканы CO устойчивые, высококипящие жидкости с ТКип. были 220°C. Они получены реакцией а, й -диаминоалкана и 1,2-дигало- генэтана в среде 1,2-дихлорэтана или в бен- золе в присутствии 50% щелочи при 60-70°С.

П р и м е р 1. а, -бис-М-азиридинобу- тан. Мутагенная активность на бактериальной клетке Salmonella typhimurium TA1535 0,1 мл раствора а, у-бис-М-азиридинобута- на заданной концентрации в воде добавляют к 2 мл 0,6%-ного водного агара, содержащего 0,5% NaCl, биотин и гистидин (по 10 мл 0,5 мМ раствора на 80 мл такого водного агара), 0,1 мл свежей ночной культуры бактерий S typhimurium TA1535 с титром 1-5 108 кп/мл и 0,5 мл фосфатного буфера Серенсена рН 7,4. Пробирку с эт верхним агаром встряхивают, перемец быстро выпивают в чашку Петри на поверхность нижнего минимального агара, содержащего 2% arap с MgS04, глюкозой и концентратом солей. После надежного застывания верхнего слоя чашки Петри переворачивают и инкубируют в термостате при 37°С 48 ч, после чего учитывают число Ніѕ ревертантов. Для учета спонтанного фона частоты спонтанных мутаций вместо раствора мутагена в пробирку с 0,6%-ным агаром вносят 0,1 мл воды.

активность Мутагенную опытных соединений изучают в соответствии Результаты методикой. данной исследований представлены в табл. 1.

Анализ данных табл, 1 свидетельствует о том, что все изученные соединения мутагенным выраженным обладают действием, при их использовании частота индуцированных His ревертантов превышает спонтанные показатели в десятки и сотни раз. Наибольшую активность при этом проявляют азиридиноалканы с числом групп

СН2, равным 4-7. Пример 2. а, бис-14-азиридинобу-тан. Мутагенная активность на бактериальных клетках Salmonella typhimurium TA100 pKM101.

мутагенной аткивности Испытание аналогично методу, проводят описанному в примере 1, но в качестве тест-объекта используют штамм S. typhimurium TA100, содержащий плазмиду pKM101.

В табл. 2 приведены результаты изучения мутагенной активности а, й и других -бис-М-азиридинобутана азиридиноалканов в отношении штамма S. typhimurium TA100 pKM101.

Как следует из табл. 2 и 1, зарегистрирован выдающийся мутагенный ряда а, й эффект соединения бис-Ы-азиридиноалканов с п для Шение отдельных соединений превыдостигает 250 спонтанного фона раз. Мутагенный эффект соединения с п 12 выражен слабее.

Сравнительная 3. Пример мутагенная активность 1 мМ растворов а, а -бис- 1-ази- ридиноалканов на S, typhimurium TA100 pKM101.

Эксперименты проводят в соответствии с методом в примере 2, однако все соединения испытывают в эквимолярных дозах- 0,7 мМ на чашку. Результаты экспериментов приведены в табл. 3. Для сравнения изучен также 0,7 мМ азиридин.

Из данных табл. 3 следует, что так и в предыдущих опытах, наибольшую проявили u. активность бис-гЛ-азиридиноалка- ны с числом п 4-8, как в абсолютных значениях количества колоний-ревертантов

на чашку, так при расчете числа His ревертантов на 1 мМ препарата. показывают

Меньшую активность соединения с числом п 3 и 12. Однако и они являются мутагенами, так как в соответствии со стандартным тестом Эймса мутагенными считаются соединения, вызвавшие превышение спонтанного фона не менее чем в 2 раза. -бис-1

Й и. образом, Таким

делает практическое использования а, бис-1М-азиридиноалканов значительно менее опасным.

Формула изобретения Применение а, аМэис-М-азиридиноалка- нов общей формулы N(CH2)nN , где п 3 или 4, или 5, или 6, или 7, или 8, или 12, в качестве мутагена.

Таблица 1

S



25

10

30

35

50

55

60

-5.

_ 1		
Формула изо		7,0,,,,,,
Φορινίγεια στο σ		
Мутагенная акти ть а, со-бис-М-азиридиноалканов на штамме S.		heyrarguman parmanipars at an-dear-N-quark-communications and minutes in the second state of the second state of the second seco
typhimurium TA1535		Containted Fourterment Section 161 percept in armos inpension of infension and income as vary members, and constraint and income and vary members, and constraints
- Данные усреднены из трех независимых	5	Description Color
в кажлом из которых		DN(CH ₂) ₂ N/Q 0.05 0.384 339 84 0.304 0.05 0.384 339 85 0.384 0.05 0.394 0.05 0.395 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.00 0.
опытов, в каждом из повторностей анализировали не менее трех повторностей		DNICH13NCI 6.33 6.39 140 140 140 140 140 140 140 140 140 140
заданной концентрации мутагена.		DN(CH ₂) CNC 8.21 0.0595 240 40 144 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.
Таблица2		DN(CH) NACI 235 C397 878 346 327 C397 C397 C397 C397 C397 C397 C397 C39
Мутагенная активность а,		DMCH2-bMC 630
со-бис-М-эзиридиноалканов на штамме S.	10	77.1
tumbimurium TA100 DKM1U1		
Lucas His negentation, индуцированных ч,		Construction of the second sec
й бис-Мазиридиноалканами в Salmonella		
typhimurium TA100		Alyxampus a crise-socia Co-daeler-suspanionanistica na urspuse E. typhienistim TA (60 pk/h O)
nKM101 a pacyete Ha 1 MM,	15	Congruences Kornestickum Hander Hands His pump Enerties nipsta- mer-rams i addingsory hards adams pomp enerties pom enerti
- предцее из трех независимых	,,,	
а - среднос за вычетом спонтанного		DHICH- DHIC
фона		DN(CH2)-DN
Продолжение табл. 2		DN(CH2)aNQ 0.00 0.000 1000 14.0 0.00
Таблица 3		DN(CH ₂) ₈ N □ 000 0.299 923 17.8 0.09 1917 1.67 0.01 0.099 1917 1.67 0.01 0.094 0.05 0.04 0.05 0.05 0.05 0.05 0.05 0.0
1721125 4	20	DNCH12NC 2.00 2.01
		DN(CH214NC) 0.012 0.07 106 1.0 0.12 0.7 362 5.8
As a supreme apratiment according to the supremental s		
нал по Потры в предвательности от да на высовн- нато сооричения. нато сооричения.		•
were configured an amount of Early (1997). The proposed and the proposed a		
resistant constitution of the second	25	
50-70°C. If a sid o p 1, ct and not required the supplied in CASSON. The sid o p 1, ct and not required to the side of the s	25	
must account Salamentals by American IA (355) (b) I may pure toppe (2, m Sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppe (2, m Sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppe (2, m Sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppe (2, m Sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppe (2, m Sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppe (2, m Sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppe (2, m Sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppe (2, m Sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppe (2, m Sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppe (2, m Sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppers, and a sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppers, and a sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppers, and a sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppers, and a sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppers, and a sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppers, and a sat 44-dispersion toppers) (c) I may pure toppers, and a sat 44-dispersion toppers, and a sat 44-dispersi		
на заданный деливит радиля в воря досовых — 3 по-транечти проведи в сообвателя — 3 по-транечти проведи проведи — 3 по-транечти проведи пр		
sequent a seek 0, 1 se course entrop your and its nature Payacrans accession to the rype barriages 5, typh murselin TARDS c naturalises in take 1. The case owners symmetry of the case of		
when the prices would bill passessment and to select the contraction of the contraction o		
A link to the managers and with the same and the same and the same approximate the same appro	30	
с Мајаби, гимисков и воице-тротом симей. ЭС на чашку дах при расче о часки или десер- После навелиного застивални изрането слее После навелиного застивални изрането слее		
Tock - maximum secrutation ordinarie secu- mental large language of the secretary of the se		
C DES was eligible species (i) in a million. Microsome properties a committee of the species of		
ние представлена в refer.). Авансь денных цейс. 1 семнетальствую: Авансь денных цейс. 1 семнетальствую: ————————————————————————————————————		
rest congrammation of risk. I have been a confirmation of the conf	<i>35</i>	
Amount to the control of the control		
Ст замежденський с ческом групе СН; 50 далеят Араспинской испоразования с об ражения 4-7. — при		
THE MYSE WIND BETTER PORTS IN COLUMN TAKES		
tout high course accessment to Educations and Security of the Conference of the Conf		
economic operation and a serior of the serio	40	
	70	
•		
3 1723175 Ann San San San San San San San San San S		
Даля портовеня портовення по заходення до подпортов до п		·
number of parties access this is selected to a second seco		
med, marcontoleclaspie an Auditor & Tom. 189- 120°C. Own datas occupant moneyeans an augmentation and augmentation of		
CONTROL OF CONTROL AND SO S. MARCHE SON MICHIEL CONTROL OF THE PARTY SON TO THE PROPERTY OF THE PARTY SON THE PART		
The same of the sa		
The year of the Section of Members and Section (Section (
of 1.2 ma 0.6% natio sepected stable. Compression 1.5% INCL Secretary Transport 10 to 100 to		
requests a feet, it, on corene several reports of the several report		
Trydage Carpen-parts pol 7.4. Time Expany a street 25 Ma. Januaria 1907. 3 Chargery error 14. 10 fregishment error and the street partners on the street partn		
EY (Ter par us notapy knotto "ear nota" His a notable 6 - 4-5, 24 a documentary properties of the company of th		
Focus had compressed entire and england comments of the commen		
To the Contraction of the Contra		
The disposite post topic wife asset in graphy in the state of the stat		
ных соеденнямий термов в соответствия с денням образовать по места денням открыть в подменями от в места не денням образовать по места не денням открыть от по денням от по места по места не денням от по места		
And any account with, if a main concept of the property of the		
O PCM, VEN AND MATTHEW COMMISSION OF COMMISS		

S

A 1

Продолжение табл., 2

Соединение	Концентрация		Число HIs ⁺ ревер-	Кратное превы-	
	мг/чашку	мМ/чашку	тантов на чашку шени	шение спонтан- ного фона, раз	
DN(CH ₂) ₁₂ N⊲	0,0017 0,017 0,17	0.004 0.04 0.4	62 66 156	1,0 1.06 2.66	
Спонтанный фон	0	. 0	62	1 2,00	

Таблица 3

Число His ревертантов, индуцированных α, ω-бис-Nазиридиноэлканами в Salmonella typhimurium TA100 pKM101 в расчете на 1 мМ.

Соединение	Число His ревертантов на чашку (а)	Число His ревертантов на 1 мМ (б)
DNH	400	571
DN(CH ₂) ₃ N⊲	223	179
. ▷N(CH ₂) ₄ N⊲	1280	1688
\triangleright N(CH ₂) ₅ N \triangleleft	1012	1305
DN(CH2)6N⊲	1034	_. 1338
DN(CH ₂) ₇ N⊲	996	1283
▷N(CH ₂)8N<	362	429
N(CH ₂₎₁₂ N⊲	245	210
Спонтанный фон	62	

а - среднее из трех независимых экспериментов

б – за вычетом спонтанного фона

S

5

'n

•	Составитель С.Васильев
 II Canana	Tauran M. Managaran

Редактор Н.Горват Техред М.Моргентал Корректор Э.Лончакова

Заказ 1042 Тираж Подписное ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР 113035. Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул.Гагарина, 101

U 1723125 A1

THIS PAGE BI ANK

SU 1723125

L3 ANSWER 1 OF 1 CAPLUS COPYRIGHT 2005 ACS on STN

AN 1993:75205 CAPLUS

DN 118:75205

Bis-N-aziridinealkanes as mutagens

IN Vasil'eva, S. V.; Kadorkina, G. K.; Kostyanovskii, R. G.; Makhova, E. V.; Pavlova-Rezakova,

A. G.

PA Semenov, N. N., USSR

SO U.S.S.R.

From: Izobreteniya 1992, (12), 129.

DT Patent

LA Russian

_, ,	PATENT NO.	KIND	DATE	APPLICATION NO.	DATE
	- SU 1723125 91208 <	A1	19920330	SU 1989-4767001	
	71208 < r Sti 1989-4767001		19891208		

AB Bis-N-aziridinealkanes (I; n = 3-8, 12) are mutagens.

IT Alkanes, compounds

RL: BIOL (Biological study)

(bisaziridine derivs., as mutagens)

IT Mutagens

(bisaziridinealkanes)

IT 18924-57-7 25781-25-3 40717-38-2 56522-41-9 134753-77-8

134753-78-9 134753-79-0 RL: BIOL (Biological study)

(as mutagen)

DIALOG(R)File 351:Derwent WPI

(c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

009398212

WPI Acc No: 1993-091686/ 199311

Alpha, omega-bis-N-aziridino-alkane(s) used as chemical mutagens – are prepd. by reacting alpha, omega-diaminoalkane with dihalo-ethane in dichloroethane or benzene in presence of alkali

Patent Assignee: CHEM PHYS INST

Inventor: KADORKINA G K; KOSTYANOVSKII R G; VASILEVA S V

Number of Countries: 001 Number of Patents: 001

Patent Family:

Patent No Kind Date Applicat No Kind Date Week SU 1723125 A1 19920330 SU 4767001 A 19891208 199311 B

Priority Applications (No Type Date): SU 4767001 A 19891208

Patent Details:

Patent No Kind Lan Pg Main IPC Filing Notes SU 1723125 A1 4 C12N-015/01

Abstract (Basic): SU 1723125 A

Alpha, omega -bis-N- aziridinoalkanes of formula (I), where n = 3-8 and 12 is obtd. by

THIS PAGE BLANK (USPTO)



reacting alpha, omega-diaminoalkane with 1,2-dihaloethane in 1,2-dichloroethane or benzene, in the presence of 50% alkali, at 60-70 deg.C.

USE/ADVANTAGE - In genetics. (I) find novel use as chemical mutagens. They are safer and more active than the parent aziridine of formula (II), and are used as mutagens for bacterial cells of Salmonella typhimurium TA 100 with the genotype hisG46uvrBrfa pKM 101. The cpd. boils at much higher temp. of 190-220 deg.C, compared with (II) which boils at 50 deg.C. Bul.12/30.3.92

THIS PAGE BLANK (USPTO)